

施与培養液濃度がカンゾウ (*Glycyrrhiza glabra* Linn.) の無機成分並びに
グリチルリチン含有量に及ぼす影響

佐藤 卓,^{*,a} 池田英男,^b 古川 一,^b 村田雄司,^c 供田真由子^c

The Effects of Nutrient Solution Concentration on Inorganic and
Glycyrrhizin Contents of *Glycyrrhiza glabra* Linn.

Suguru SATO,^{*,a} Hideo IKEDA,^b Hajime FURUKAWA,^b
Yuji MURATA,^c and Mayuko TOMODA^c

Faculty of Horticulture, Chiba University,^a 648 Matsudo, Matsudo City 271-8510, Japan,
College of Agriculture and Biological Sciences, Osaka Prefecture University,^b
1-1 Gakuen-cho, Sakai 599-8531, Japan, and Biochemical Laboratory,
Saraya Co, Ltd.,^c 2-12 Tamate-cho, Kashiwara 582-0028, Japan

(Received April 15, 2004; Accepted July 2, 2004)

Licorice, *Glycyrrhiza glabra* Linn., is one of herbal medicines widely used for various purposes, including as a sweetener and for gastric ulcer treatment. However, environmental destruction due to the harvesting of wild licorice is becoming a serious problem. We cultured licorice in a hydroponic system to examine the relation between the concentration of nutritional solution applied and glycyrrhizin content to determine the optimal nutrient solution concentration for commercial licorice production. Licorice growth and glycyrrhizin content in the root reached the highest values when the plants received nutrient solution approximately equivalent to a quarter unit of Hoagland solution. The results also indicated that the glycyrrhizin content does not correlate with the concentration of nutrient solution applied and/or inorganic contents absorbed, *i.e.*, licorice may absorb large amounts of nutrient solution but the glycyrrhizin content may not increase.

Key words—herbal medicine; *Glycyrrhiza glabra*; nutrient requirement; commercial production; glycyrrhizin accumulation

緒 言

カンゾウ (*Glycyrrhiza glabra* Linn.) は甘味剤、胃腸薬などとして用いられる重要な生薬で、日本における消費量は増加傾向にあるが、その大部分を海外、特に中国からの輸入に頼っている。2000年の日本のカンゾウ総輸入量は4151 tで、このうち中国産は3250 tを占め、中国からの輸入は過去10年で最高となっている(厚生労働省, 2002)。

その一方で、カンゾウの乱獲による環境破壊が中国西北地域一帯で進行しつつあり、中国政府は現在まで実施していたカンゾウの輸出許可制度を活用した輸出総量規制、輸出港の限定による無許可輸出の防止、輸出許可取得料の値上げ、生産地に対する管

理・規制などを進めている。そこで、中国では野生カンゾウの採集に代わり、栽培によるカンゾウの生産を実施しているが、かならずしも日本薬局方の定めるグリチルリチン酸含有量を満たしていない。¹⁾ 一方、個人輸入業者が主として販売する未承認医薬品による健康被害があとを絶たないことから、既存の漢方や生薬においてもより厳密な品質管理が求められる可能性が考えられる。²⁾ 加えて、生薬は天然物であることから採取時期、産地などにより含有成分が変化することやトレーサビリティの観点からも、低価格に安全で高品質な生薬を生産するために必要な薬用植物の安定生産に関する基礎的知見が求められている。

カンゾウに関しては自生株の形態的観察や種子の発芽率、³⁾ 繁殖方法、⁴⁾ 根毛培養に含まれるフラボノイドの分類⁵⁾ や異なった採取場所のカンゾウに含まれる薬効成分の違い⁶⁾などを調査した報告はある

^{a)}千葉大学園芸学部, ^{b)}大阪府立大学農学生命科学研究科, ^{c)}サラヤ株式会社バイオケミカル研究所
e-mail: s.sato@faculty.chiba-u.jp

が、栽培的な観点からカンゾウを調査・研究した報告は見られない。また、従来の収穫方法が野生カンゾウの収穫に頼っていたことから、安定生産を目的とした報告、特に栽培方法と薬効成分であるグリチルリチン含量の関係を調査した研究もほとんど認められない。一方、多くの園芸植物では、植物体の生育に最も好適な施肥方法や、栄養成分の含有率を上昇させるための栽培管理方法などが確立されている。また、過去には化成肥料の過剰な施与などによる土壤汚染、周辺環境の富栄養化などが問題となっていたが、植物を栽培することによる環境負荷を低減させる肥培管理方法も必要とされている。今日、工業、農業に関わらずいかなる生産活動においても、持続的な生産体型を確立させることは不可欠であろう。カンゾウにおいても、日本薬局方に定めるグリチルリチン酸含有量を満たす植物体を安定的に、かつ栽培施設周辺への環境負荷を及ぼすことなく生産する必要がある。そこで本研究では、施肥の無機成分濃度とカンゾウの生育並びに無機成分吸収量、グリチルリチン含有量の関係を調査した。具体的にはカンゾウを3種類の異なった培養液濃度で養液栽培を行い、植物体中のグリチルリチンと無機成分の含有量を分析することにより、カンゾウを営利栽培する上で最も効率的で、また、植物に吸収されない過剰な施肥を避けるための栽培上の基礎的知見を構築しようとした。

材料及び方法

1. 栽培方法 2003年5月14日に株式会社サラヤ熊野薬草園（三重県熊野市）の所有するカンゾウ (*G. glabra*) から2株を選抜し、根茎を7cm長、また芽を一本含むように株分けした。^{a)} 株分けした植物体は生体重が 26.04 ± 7.27 g であり、粒状ロックウール（ニチアス）を詰めた 1/5000a のワグネルポットに定植した。なお、株式会社サラヤ所有のカンゾウは1992年に北海道立衛生研究所より分与されたものである。また、ロックウールとは輝緑石を千数百度の熱で溶かし、綿状にしたあとに成形したもので、従来の土を用いた栽培に対し無菌であり土壌伝染性病害の心配がない上、通気性、保水性、保肥性に優れていることから営利目的、また栄養生理研究のための養液栽培において世界中で広く使われている栽培資材である。培養液処理として大塚培養

液 A 処方 (N, P, K, Ca, Mg=18.6, 5.1, 8.6, 8.2, 3.0 me/l) の 1/8 単位区 (以下 1/8 区)、同 1/4 単位区 (1/4 区)、同 1/2 単位区 (1/2 区) を設けた。各処理区 5 株を供試し、点滴かん水装置により 1 日 4 回、底面から培養液が排出されるまで培養液をかん水した。2003 年 10 月 22 日に収穫し、乾物重を測定し、植物体中の無機成分とグリチルリチンを分析した。分析結果の統計処理には Statistica ver.5.1 (Softstat, Tulsa, OK, USA) を用い、分散分析並びに多重比較を行った。

2. 無機分析 植物体の地上部及び地下部を 60°C に設定した通風乾燥機内で乾燥後、粉碎し、550°C に設定した電気炉で約 12 時間、灰白色になるまで灰化させた。冷却後、1:1 HCl 溶液を約 2.5 ml を加えて解し 50 ml メスフラスコに定容した。溶液をシリンジフィルター (SJLG025NS, ミリポア) でろ過したのち、ICP (Vista-MPX, セイコーインスツルメンツ) を用いてリン及びカリウム含有量を測定した。各処理区から 6 個体を供試した。

3. グリチルリチン含量 部位毎にグリチルリチン含有量を調べるため、地上部 (葉及び茎) と地下部 (根) に分けて粉碎し、重量を秤量後、105°C の乾燥機で恒量になるまで 2—3 時間乾燥させた。乾燥後の粉碎試料約 3 g を正確に秤量し、70% (v/v) のエタノール 100 ml とともにソックスレー抽出を 3 時間行った。地上部の抽出液を蒸留水で 20 ml に、地下部の抽出液は蒸留水で 50 ml に定容したのち、0.45 μ m のフィルターで濾過し、その 20 μ l を高速液体クロマトグラフィー (HPLC, LC10AD-VP, 島津製作所) で分析した。カラムには Nucleosil 100-5C18 (4.6 mm ϕ × 150 mm, ステンレス) を用い、40°C に設定した。移動相としてリン酸で pH=2.6 に調整したアセトニトリル/10 mM リン酸水素二ナトリウム (35/65, v/v) を用い、流量は 10 ml/min に設定し、紫外分光光度検出器 (SPD-M10A, 254 nm) により検出した。得られたデータから乾燥重当たりのグリチルリチン含量を計算した。各処理区より 4 個体を供試した。

結 果

Figure 1 に培養液処理がカンゾウの地上部・地下部乾物重に及ぼす影響を示した。地上部 (Fig. 1 (A)) では 1/4 区が最も高い値 (181.88 g) となり、

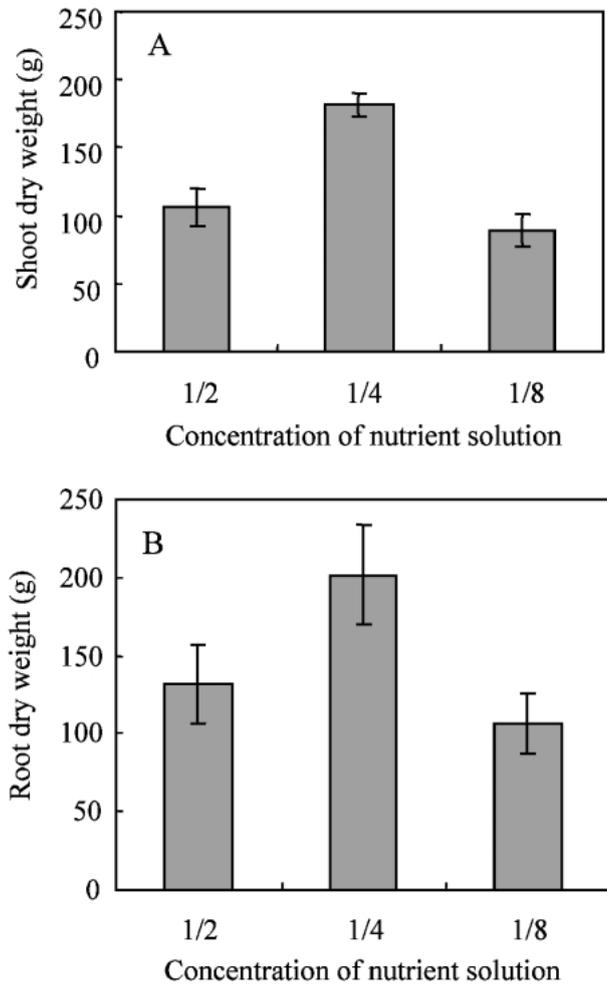


Fig. 1. The Effects of Nutrient Solution Concentration Applied during Cultural Period on the Shoot and Root Dry Weight of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn.) Plants
Bar indicates standard error. $n=5$.

多重検定では 1/2 区 (106.86 g) 並びに 1/8 区 (89.25 g) とは有意差が認められたが (ともに $p < 0.01$), 1/2 区と 1/8 区の間では有意差は認められなかった. 同様に地下部 (Fig. 1 (B)) でも 1/4 区で最も高い値 (201.81 g) となり, 1/8 区 (106.55 g) とは有意差が認められた ($p=0.046$) が, 他の処理区間では有意差は認められなかった.

Figure 2 に培養液処理が地上部・地下部のリン及びカリウム含有量に及ぼす影響を示した. 地上部では培養液濃度が高くなるにつれリン (2A), カリウム (2B) とともに含有率が高くなる傾向が認められ, 1/2 区では他の処理区よりも有意的に高かった (5% レベル). 一方, 地下部では培養液濃度が高くなるにつれリン (2C) では含有率が上昇する傾向に, カリウム (2D) では 1/4 区で高い傾向にあったが

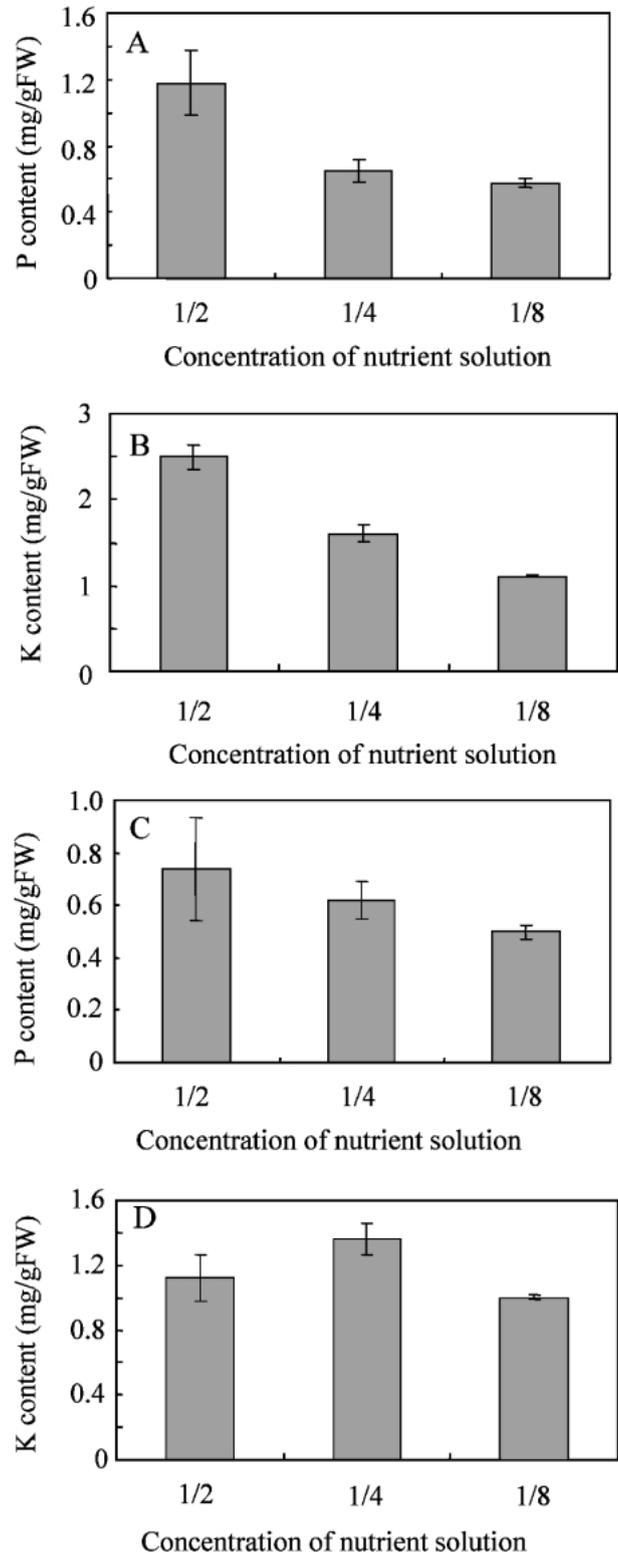


Fig. 2. The Effects of Nutrient Solution Concentration Applied during Cultural Period on the Phosphate and Potassium Contents in Shoot and Root of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn.)
Bar indicates standard error. $n=6$.

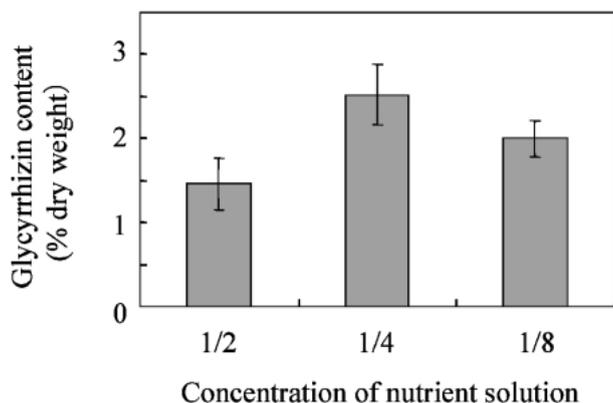


Fig. 3. The Effects of Nutrient Solution Concentration Applied during Cultural Period on Glycyrrhizin Content in Root of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn.)

双方とも有意差は認められなかった。

Figure 3 に培養液処理がグリチルリチン含有率に及ぼす影響を示した。地上部からは検出されなかった（検出限界濃度、0.0001%以下）、地下部のみのデータを表示した。1/4区で2.52%と最も高く、1/2区（1.46%）との間に有意差が認められた。1/2区と1/8区、1/4区と1/8区の間には有意差は認められなかった。

考 察

草野ら（2003）はカンゾウの優良品種を選抜する条件として2年間の栽培で地下部乾物重が100g以上になり、グリチルリチン含有率が2.5%以上であることなどを挙げている。本研究では種子繁殖ではなく地下部を株分けしたが、26g程度の苗を定植後、約半年で地下部は200g前後にまで肥大した。さらにグリチルリチン酸は1/4区で2.52%となり日本薬局方の規定である2.5%⁷⁾に達した。よって栽培方法によっては比較的短期間でカンゾウを効率的に生産できることが示唆された。

G. glabra は南ヨーロッパからロシア、中近東といった比較的降水量の少ない地域に自生している。⁸⁾ しかしながら、自生地気象条件がすなわち栽培に好適な条件であるとは限らない。例えば、トマト (*Lycopersicon esculentum* Mill.) の原産地は南米のアンデス山脈とされており、野生種には極めて高い耐塩性や低温耐性を持ったものが存在するが、栽培種として一般的に選抜されているものは生育適温範囲が狭く、商業的に品質の高いトマトを栽

培するためには極めて綿密な温度、土壌水分、無機成分管理が必要とされる。⁹⁾ つまり、われわれ人間が求める栽培作物としての特性（甘さ、ビタミンCなど）はその植物の生育に適している環境条件とはかならずしも一致しないことを示している。今回の実験では点滴かん水装置を使用した。生育は極めて良好であったことから、カンゾウについても豊富な水分や養分を与えることにより、生育を促進できる可能性が考えられる。さらに、今回の実験では行わなかったグリチルリチン含有量の経時変化、季節変化を調査することでより経済的な収穫時期を解明することができると思われる。これらカンゾウの植物生理学的な知見に加え、多くの園芸作物栽培で普及している養液栽培システムを用いることにより、周辺環境を汚染又は環境を破壊することなく高品質なカンゾウを栽培・収穫できると考えられる。

このような生薬生産を目的としたカンゾウの栽培には無機成分要求特性のほかに、より薬効成分の高い系統の同定や薬効成分の蓄積量と栽培環境要因の関係を調査する必要がある。さらには温度、水分、無機栄養など物理・化学的環境条件のほかに植物の内生条件も考察しなければならない。例えば、植物生長調節物質の1つであるサイトカイニンの生成を抑制すると地下部の生育が増加することが知られている。¹⁰⁾ また、カンゾウはマメ科植物であることから根粒菌が着生することが考えられるが、根粒菌の着生と様々なカンゾウ系統の生育とグリチルリチン含量に関する報告はほとんど見られない。ダイズ (*Glycin max*) では菌根菌が着生することにより、着果率は上昇するが地上部に対する地下部の比率が低下すると報告されている。¹¹⁾ よってカンゾウの栽培においては菌類の着生が生薬生産の目的に合致するとは限らず、今後の調査が必要であろう。

以上、本研究では大塚培養液A処方¹⁾の1/4単位培養液をかん液することによりカンゾウの生育を促進し、グリチルリチン含有率を上昇させることができた。本実験結果を元にさらに研究を進め、その他の栽培環境要因とカンゾウの生育、グリチルリチン含有量の関係を明らかにさせることによりカンゾウの安定生産技術が確立できるものと考えている。

謝辞 本報告に係わる研究費の一部を山崎香料振興財団に助成していただいた。ここに記して御

礼を申し上げる。

REFERENCES

- 1) Ministry of Health, Labour and Welfare, “Yakuyo shokubutu no riyokaihatsu touni kansuru kentouni tsuite,” <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2002/03/s0312-1.html>. 2002.
- 2) Ministry of Health, Labour and Welfare, <http://www.mhlw.go.jp/kinkyu/diet/> 2004.
- 3) Kusano G., Shibano M., Watanabe H., Ozaki K., *Yakugaku Zasshi*, **123**, 619–631 (2003).
- 4) Kohjyouma M., Kohda H., Tani N., Ashida K., Sugino M., Yamamoto A., Horikoshi T., *Plant Tissue Culture Lett.*, **12**, 145–149 (1995).
- 5) Li W., Asada Y., Yoshikawa T., *Phytochemistry*, **55**, 447–456 (2000).
- 6) Statti G. A., Tundis R., Sacchetti G., Muzzoli M., Bianchi A., Menichini F., *Fitoterapia*, **75**, 371–374 (2004).
- 7) Ministry of Health, Labour and Welfare, “Japanese Pharmacopeia XIV.” <http://jpdb.nihs.go.jp/jp14/> 2001.
- 8) Vaughan J. G., Geissler C. A., “The New Oxford Book of Food Plants,” Oxford University Press, New York, 1997, pp. 144–145.
- 9) Phillips R., Rix M., “The Random House Book of Vegetables,” Random House, New York, 1993, pp. 150–157.
- 10) Werner T., Motyka V., Strnad M., Schmulling T., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **98**, 10487–10492 (2001).
- 11) Busse M. D., Ellis J. R., *Can. J. Botany*, **63**, 2290–2294 (1985).